

**КАРТИРОВАНИЕ QTL У ГЕКСАПЛОИДНОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.) В УСЛОВИЯХ ЗАПАДНО-СИБИРСКОЙ РАВНИНЫ\*****В.П. ШАМАНИН<sup>1</sup>, С.С. ШЕПЕЛЕВ<sup>1</sup>, В.Е. ПОЖЕРУКОВА<sup>1</sup>, И.В. ПОТОЦКАЯ<sup>1</sup>, Н.В. КОЧЕРИНА<sup>2</sup>, U. LOHWASSER<sup>3</sup>, A. BÖRNER<sup>3</sup>, Ю.В. ЧЕСНОКОВ<sup>2</sup>**

Картирование локусов количественных признаков (QTL) — современное направление в изучении их генетической изменчивости, одна из задач которого состоит в картировании QTL, определяющих хозяйственно ценные признаки, для их эффективного использования в маркер-вспомогательной селекции (marker-assisted selection, MAS). Мы впервые оценили набор из 114 рекомбинантных инбредных линий картирующей популяции ITMI (International Triticeae Mapping Initiative) яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в условиях Западно-Сибирской равнины России. Картирующая популяция ITMI была создана посредством опыления яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Opata 85 пыльцой синтетического гексаплоида W7984, представляющего собой амфидиплоид, полученный скрещиванием *Aegilops tauschii* Coss. (образец SIGM86.940, DD) и тетраплоидной пшеницы *T. turgidum* var. *durum* сорта Altar 84 (AABB). На протяжении всего периода вегетации изучали проявление 42 хозяйственно ценных признаков, характеризующих устойчивость к болезням, засухе, морфологические признаки и компоненты продуктивности растений. В результате были идентифицированы 55 локусов количественных признаков. Достоверность взаимосвязи между выявленными локусами и полиморфизмом по тому или иному признаку оценивали на основе порогового значения отношения правдоподобия десятичного логарифма шансов LOD-score (logarithm of odds). У 35 установленных QTL LOD-оценка превышала 3,0. Выявленные и локализованные в 19 группах сцепления QTL изучаемых признаков проявляли себя в условиях южной лесостепной зоны Западно-Сибирской равнины с разной степенью достоверности. Показано, что изученные количественные признаки взаимосвязаны и коррелируют между собой, при этом их проявление может как зависеть от воздействия окружающей среды, так и не зависеть от внешних условий. Для определения характера сопряженности связи между признаками рассчитывали коэффициенты корреляции  $r_{xy}$ . Как следует из результатов проведенного корреляционного анализа, проявление изучаемых хозяйственно ценных признаков было взаимосвязано и характеризовалось разной степенью корреляции, что свидетельствует об их комплексной природе. Установлено, что генетическая изменчивость большинства изученных признаков, как правило, контролируется несколькими QTL с широкими эффектами действия, которые коррелируют друг с другом, либо большим числом локусов с малыми эффектами. Выявленные 55 QTL и сцепленные с ними молекулярные маркеры могут представлять интерес для изучения генетического контроля хозяйственно ценных признаков, определяемых идентифицированными QTL, и для осуществления маркер-вспомогательной селекции у мягкой пшеницы.

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum*, количественные хозяйственно ценные признаки, QTL, эколого-генетическое картирование, южная лесостепная зона Западно-Сибирской равнины России.

Картирование локусов, определяющих проявление количественных признаков, — QTL (quantitative trait loci), составляет основной интерес современного молекулярного подхода к селекции по полигенным признакам, в том числе маркер-опосредованной селекции (marker-assisted selection, MAS) (1–3). Одна из задач этого научного направления состоит в идентификации, изучении, картировании и интродукции в необходимые селекционеру линии и сорта QTL, эффективно влияющих на варьирование фенотипических признаков. Современная методология картирования QTL довольно подробно описана (4–6), в том числе в отечественных публикациях (7–9). Резюмируя имеющуюся информацию, можно сделать вывод, что при отсутствии явно выраженных молекулярно-генетических различий между типами генов, регулирующих количественные и качественные признаки, метод генетического картирования, используемый для качественных (менделевских) факторов, напрямую неприменим к количественным признакам, поскольку в этом случае особи в потомстве не могут быть классифицированы или распределены в дискретные фенотипические классы.

\* Исследование проведено при финансовой поддержке РФФ (проект № 16-16-10005).

На сегодняшний день в ряде работ представлены результаты практического использования QTL-анализа как для картирования идентифицированных QTL, так и для их клонирования и переноса в селекционно значимые линии и сорта (8). Одна из важнейших составляющих картирования QTL — изучение влияния окружающей среды на проявление изучаемых признаков. Как известно, селекционеры могут использовать информацию по QTL-анализу только при воспроизводимости результатов, что описано для части QTL в ряде исследований (10). Кроме того, при зависимости проявления QTL от воздействия окружающей среды селекционер может корректировать условия выращивания растений (например, при реализации программы точного земледелия) (11), чтобы в определенных условиях проявились нужные ему признаки. Следовательно, картирование QTL в различных эколого-географических зонах имеет не только фундаментальное, но и селекционно-практическое значение. Началом проведения эколого-генетического картирования QTL можно считать работы, в которых было показано, что локализация установленного QTL может изменяться в разных экспериментах и относительно других QTL, что указывает на значительный эффект внешних условий на проявление признака (12, 13).

Чтобы установить эффект взаимодействия генотип  $\times$  среда, была протестирована стабильность локализации QTL в идентифицированных группах сцепления в зависимости от внешних условий. Так, у томата 350 потомков поколения  $F_2$  выращивали в трех экологически различных географических пунктах (два — в США, одна в Израиле). В результате авторы выявили 29 QTL, причем 15 из них были специфичны лишь для какого-то одного пункта и только 5 оказались общими для всех трех (12). В то же время более слабое влияние окружающей среды обнаружено у кукурузы в США при выращивании в шести пунктах (по две в штатах Северная Каролина, Айова и Иллинойс) (13). В этом эксперименте доля общих идентифицированных QTL оказалась выше. У риса 127 линий двойных гаплоидов изучили в девяти географических точках на Филиппинах (14). Оценивая высоту растений и время образования колоса, авторы выявили 37 основных QTL, определяющих эти признаки, и 29 QTL с эпистатическим эффектом. В Италии изучали QTL, контролирующее содержание белка в зерне (15). Поскольку этот признак тоже зависит от условий выращивания, для выявления QTL использовали 65 рекомбинантных инбредных линий (РИЛ) тетраплоидной пшеницы. В результате авторы локализовали семь QTL, определяющих содержание белка в зерне, на хромосомах 4BS, 5AL, 6AS (два QTL), 6BS, 7AS и 7BS, причем их проявление напрямую зависело от условий выращивания. Эти данные сходны с полученными российскими учеными совместно с немецкими коллегами на гексаплоидной пшенице (16, 17), когда картирующую популяцию выращивали в Германии. Авторы оценивали 51 РИЛ мягкой пшеницы. В результате по 14 параметрам, связанным с показателями качества зерна мягкой пшеницы, было картировано 32 локуса на 12 хромосомах разных гомеологических групп. Ранее теми же немецкими коллегами проведено картирование QTL, определяющих агрономически важные признаки у тех же РИЛ (18). В отличие от предыдущего исследования, авторы использовали 114 РИЛ и проводили наблюдения в трех географических точках Германии на протяжении четырех сезонов вегетации. В результате ими картированы 210 QTL с минорным эффектом и около 64 основных QTL, определяющих морфологические и хозяйственно ценные признаки мягкой пшеницы (18). Однако следует указать, что при кажущейся масштабности этой работы размеры делянок в эксперименте составляли по каждому сезону вегетации 3, 4, 5 и 9 м<sup>2</sup>, а оценка проводилась всего на

5 генотипах (особях) по каждой РИЛ картирующей популяции. Кроме того, эколого-географические условия Германии, безусловно, отличаются от российских (хотя бы в силу разницы в географическом положении стран).

В России картирование локусов количественных признаков у вышших растений в различных эколого-географических зонах выполняется с 2005 года (10). Так, группа российских и немецких ученых провела ряд испытаний картирующей популяции РИЛ в различных эколого-географических зонах, а также в контролируемых условиях агроэкобиополигона (10, 19-21). При этом установлено, что QTL могут быть как зависимыми от условий окружающей среды, так и не проявлять такую зависимость. Достоверность взаимосвязи между идентифицированными QTL и полиморфизмом по тому или иному признаку оценивали на основе порогового значения отношения правдоподобия логарифма шансов LOD-score (logarithm of odds). В ряде случаев локализация выявленной позиции QTL в группах сцепления сохранялась в течение ряда лет и в различных зонах, хотя величина LOD при этом могла варьировать. Кроме того, QTL-анализ выявил блочную структуру генома *T. aestivum* и позволил определить процент фенотипической изменчивости, определяемой каждым из идентифицированных QTL, а также то, каким из родителей привнесен тот или иной аллель QTL.

Интересны результаты оценки числа и точной хромосомной локализации QTL, вовлеченных в физиолого-генетические процессы формирования сложных агрономически важных признаков у яровой мягкой пшеницы (*T. aestivum*), в контролируемых условиях биополигона (21), что позволяет избирательно модифицировать анализируемый средовой параметр, сохраняя остальные без изменения. Полученные результаты однозначно подтвердили, что в фиксированных условиях локализация QTL стабильна, а проявление части QTL связано с воздействием определенных внешних факторов. Так, однофакторный дисперсионный анализ показал, что изменение температурного режима и освещенности в условиях агроэкобиополигона не повлияло только на 21 из 30 оцененных признаков (70 %). Из оставшихся признаков, подверженных влиянию температуры и освещенности, четыре напрямую связаны с зерновой продуктивностью, что определяет не только их хозяйственную ценность, но и значение для выживания, сохранения и распространения вида. Еще четыре признака выполняют защитно-адаптивную функцию в процессе вегетации, а один реализуется в фазу начального роста и развития растений, участвуя в инициации каскада физиолого-генетических механизмов, обеспечивающих максимально возможную продуктивность растений в конкретных условиях среды.

Несмотря на значительный объем данных по эколого-генетическому картированию QTL в России, информацию об особенностях функционирования генома яровой мягкой пшеницы и механизмах проявления ряда признаков, имеющих особое значение для селекционеров, нельзя считать исчерпывающей. В представленной работе мы впервые выполнили масштабное испытание 114 рекомбинантных инбредных линий картирующей популяции ITMI (International Triticeae Mapping Initiative) гексаплоидной мягкой пшеницы в районе г. Омска, выявив и локализовав QTL для 42 агрономически значимых признаков. Расположение локусов количественных признаков зависело от эколого-географических условий выращивания растений. Показано, что изученные количественные признаки были взаимосвязаны. Установлены молекулярно-генетические маркеры, сцепленные с выявленными и идентифицированными QTL.

Целью исследования была идентификация и картирования локусов, определяющих проявление хозяйственно ценных признаков у мягкой пше-

ницы в условиях южной лесостепной зоны Западно-Сибирской равнины.

**Методика.** В работе использовали рекомбинантные инбредные линий (РИЛ) картирующей популяции ITMI (International Triticeae Mapping Initiative) гексаплоидной мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Популяция ITMI была создана при опылении яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*) сорта Opata 85 пыльцой синтетического гексаплоида W7984. W7984 — амфидиплоид, полученный при скрещивания *Aegilops tauschii* Coss. (образец SIGM86.940, DD) (мужской родитель) и тетраплоидной пшеницы *T. turgidum* var. *durum* сорта Altar 84 (AABB) (женский родитель) (19, 20). В тех же работах нами описаны подробности отбора генотипов для составления РИЛ картирующей популяции ITMI и их свойства (19, 20).

Выращивание и оценку РИЛ ITMI проводили в 2016 году в условиях южной лесостепи Западно-Сибирской равнины — в центре южной части Омской области на опытном поле. Район г. Омска относится к зоне недостаточного увлажнения. Лимитирующими факторами здесь служат периодически повторяющиеся засухи разной интенсивности и эпифитотии бурой и стеблевой ржавчины (22). В целом погодные условия вегетационного периода 2016 года оказались достаточно благоприятными и были типичны для региона: в первой половине июня отмечались повышенные температуры и отсутствие осадков, в июле преобладала умеренно теплая дождливая погода, благоприятная для развития растений, в августе — теплая сухая погода. Максимальная температура воздуха в отдельные дни в июне, июле и августе достигала 32–35 °С. Максимальное поражение растений бурой и стеблевой ржавчиной отмечали в III декаде августа.

Посев рекомбинантные инбредные линий картирующей популяции ITMI выполняли вручную 17 мая 2016 года на полосах шириной 1 м с междурядьями 15 см по 40 зерен в рядок. Глубина посева — 5 см. Уборку проводили 5 сентября вручную (каждый рядок отдельно).

Анализ признаков проводили по методикам ВИР (23). Учитывали признаки, проявляющие экспрессивность, достаточную для оценки. Всего на протяжении периода вегетации проанализировали 42 признака.

QTL-анализ выполняли с помощью программы MAPMAKER/QTL (18, 24). Так как эта программа проводит вычисления на основе математической формулы J.B.S. Haldane (25), для пересчета расстояний использовали программу MAPMAKER/EXP 3.0 (24) и данные по картированию, опубликованные в базе GrainGenes (gopher:<http://www.greengenes.cit.cornell.edu>). Полученные результаты фенотипического анализа интегрировали в существующую базовую карту, созданную для популяции ITMI (26) Идентификацию и локализацию QTL в группах сцепления выполняли с помощью программы QGENE (27), как описано ранее (18–20), при этом использовали только те маркеры, которые соответствовали функции картирования по D.D. Kosambi (28), учитывающей интерференцию.

Достоверность взаимосвязи между выявленными локусами и полиморфизмом по тому или иному признаку оценивали на основе порогового значения отношения правдоподобия логарифма шансов LOD-score (logarithm of odds) (29, 30). Для каждого признака в каждом эксперименте проводили индивидуальный QTL-анализ и устанавливали степень фенотипического варьирования признаков ( $R^2$ ), которые объясняются соответствующим QTL. Значимость каждого LOD устанавливали тестом пермутации (1000 повторений). Во внимание принимались только локусы с  $\text{LOD} \geq 3,0$  ( $p < 0,001$ ),  $2 < \text{LOD} < 3$  ( $p < 0,01$ ) и  $1,5 < \text{LOD} < 2$  ( $p < 0,1$ ) (18–20).

Для определения характера сопряженности связи между признаками рассчитывали коэффициенты корреляции  $r_{xy}$ . При допущении, что

$(x_1, y_1), (x_2, y_2), \dots, (x_n, y_n)$  — выборка из  $n$  наблюдений пары переменных  $(x, y)$ , коэффициент корреляции  $r_{xy}$  определяется следующим образом (31):

$$r_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{j=1}^n (y_j - \bar{y})^2}},$$

где  $\bar{x}$ ,  $\bar{y}$  — выборочные средние, которые рассчитывают по формулам:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i, \quad \bar{y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i.$$

Выявленные отрицательные корреляции указывают на зависимость между признаками, при которой средние значения одного признака уменьшаются при возрастании значений другого.

Достоверными считали коэффициенты корреляции при  $p < 0,05$ . Такая величина является приемлемой границей статистической значимости, поскольку включает вероятность ошибки 5 % (32). Все показатели рассчитывались по программе STATISTICA 10.0 («StatSoft, Inc.», США).

*Результаты.* Молекулярно-генетическое картирование (данные представлены в online версии статьи на сайте <http://www.agrobiology.ru>, табл. 1) показало, что признак продолжительность периода всходы—кушение определяется одним QTL, расположенным на хромосоме 6В. Степень фенотипической изменчивости, обусловленная аллелем, полученным от отцовской формы W7984, при этом была довольно высока и составляла 18,70 %. Продолжительность периода всходы—выход в трубку также определялась одним QTL, который располагался на хромосоме 5А (степень фенотипической изменчивости — 15,60 %), однако аллель в этом случае был привнесен материнской формой Opata 85.

QTL для продолжительности периодов всходы—колошение и всходы—созревание, а также формы куста располагались на хромосоме 5D. Все выявленных QTL локализовались близко друг от друга, но процент фенотипической изменчивости по каждому QTL для этих трех признаков варьировал (от 10,05 до 18,97 %). Один из двух QTL, связанных с высотой растения, тоже картировался на хромосоме 5D. Второй QTL того же признака локализовали на хромосоме 4А. Следует отметить, что все QTL, выявленные в группе сцепления на 5D, были привнесены отцовской формой, а аллель на хромосоме 4А — унаследован от материнской.

Длину верхнего (колосоносного) междоузлия определяли три QTL (группы сцепления 1А, 3А и 7А; аллели на 1А и 3А получены от материнской формы, на 7А — от отцовской). Наблюдаемая фенотипическая изменчивость была довольно высока и варьировала от 23,48 % (7А) до 28,69 % (1А, 3А). В то же время для положения флагового листа в начале колошения, определяемого единственным QTL на 3D, процент фенотипической изменчивости оказался ниже (всего 14,03 %), хотя LOD оценка составляла 3,25.

Местоположение QTL, выявленных на хромосомах 2D и 7D и определяющих проявление воскового налета на стебле и на внешней стороне листа, полностью совпало, хотя степень фенотипической изменчивости варьировала от 28,52 % (7D) до 52,42 % (2D). Восковой налет на колосе также определялся двумя QTL — на 2D и 1D (соответственно 27,32 и 12,77 % фенотипической изменчивости).

Признаки, определяющие структуру урожая (длина колоса, число колосков в колосе, число зерен в колоске, число зерен в колосе, масса зерна с колоса, масса 1000 зерен и число колосьев), были идентифицированы в семи различных группах сцепления. При этом QTL, определяющие число зерен в колоске, число зерен в колосе и массу зерна с колоса, локализовались в одном сайте на хромосоме 1В, массу 1000 зерен и число колосьев — соответственно на хромосомах 6А и 1 А, длину колоса и число

колосков в колосе — в группах сцепления 4A, 5D и 5A, 3A. Фенотипическая изменчивость варьировала от 10,41 % для массы 1000 зерен до 25,07 % для длины колоса. Оба аллеля QTL, связанных с числом колосков в колосе, и аллель QTL, определяющий длину колоса и выявленный на хромосоме 4A, были привнесены от сорта Opata 85, остальные — от W7984.

С устойчивостью к мучнистой росе, бурой ржавчине, септориозу и поражению корневыми гнилями были связаны QTL, картируемые на хромосомах 7B, 3B и 2B, с устойчивостью к стеблевой ржавчине — на хромосомах 7A и 4B. Фенотипическая изменчивость варьировала от 10,68 % (устойчивость к корневым гнилям) до 26,75 % (устойчивость к стеблевой ржавчине). Аллели QTL устойчивости, идентифицированные на 7B, 4B и 2B, были унаследованы от материнской формы, на 7A и 3B — от отцовской.

Для формы флагового листа, количества листьев на главном стебле и опушения стеблевого узла были выявлены QTL соответственно на хромосомах 4D, 1B и 7B. Аллели на 4D и 1B (получены от отцовской формы) определяли соответственно 11,63 и 12,29 % фенотипической изменчивости признаков, на 7B (от материнской формы) — 19,17 % фенотипического проявления признака опушение стеблевого узла.

Масса снопа с корнями, число растений со снопа, сохранность к уборке и масса зерна с одного снопа определялись QTL, привнесенными только материнской формой Opata 85. QTL для признаков масса снопа с корнями и масса зерна с одного снопа» были идентифицированы на хромосоме 4A в положении 87,5 сМ. QTL признаков число растений со снопа и сохранность к уборке локализовались на хромосоме 5B в позиции 128,8 сМ. Такая идентификация QTL и их расположение на хромосомах свидетельствуют о том, что масса снопа с корнями и масса зерна с одного снопа обусловлены одним локусом хромосомы 4A, а число растений со снопа и сохранность к уборке — одним локусом хромосомы 5B.

Интересно, что масса растения определялась локусом, привнесенным материнской формой, но этот QTL картировался на хромосоме 3A в положении 120,9 сМ. Общее число стеблей и количество продуктивных стеблей определяли QTL, выявленные соответственно на 3B и 2A, длину стебля — три QTL, которые локализовались на хромосомах 1A, 3A и 4A в положении соответственно 205,7 сМ, 56,3 сМ и 63,2 сМ (все эти QTL также получены от материнской формы Opata 85).

На признаки, определяющие урожайность зерна (масса главного колоса, плотность колоса, число зерен с растения, масса зерна растения, масса 1000 зерен в главном колосе и масса зерна главного колоса), в основном влиял QTL, выявленный на хромосоме 1B в позиции 23,8 сМ. Исключение составили плотность колоса и масса 1000 зерен в главном колосе: QTL для этих признаков идентифицировали соответственно в группах сцепления 5A и 6A. Все QTL привнесены отцовской формой; исключение — аллель от материнской формы, определяющий плотность колоса. Наблюдаемая при этом фенотипическая изменчивость была относительно невысока и варьировала от 10,24 % (масса 1000 зерен в главном колосе) до 16,84 % (масса зерна с главного колоса).

Коэффициенты хозяйственной ценности растений ( $K_{\text{хоз. растения}}$ ) и хозяйственной ценности колоса ( $K_{\text{хоз. колоса}}$ ) — это показатели удельной продуктивности растения и колоса. Обычно в Западной Сибири эти значения варьируют от 25 до 45 %.  $K_{\text{хоз. растения}}$  рассчитывается как процентное отношение массы зерна с растения к общей биомассе растения (без корней), но с колосьями и зерном.  $K_{\text{хоз. колоса}}$  — процентное отношение массы зерна с колоса к общей биомассе колоса с зерном. QTL для этих

двух признаков были выявлены на хромосомах 1В (оба коэффициента) и 5D ( $K_{\text{хоз. растения}}$ ). Все QTL были привнесены отцовской формой, а фенотипическая изменчивость варьировала от 11,30 % ( $K_{\text{хоз. колоса}}$ ) до 15,03 % ( $K_{\text{хоз. растения}}$ ). Необходимо отметить, что при этом степень фенотипической изменчивости определялись одним и тем же аллелем QTL, расположенным на хромосоме 1В в позиции 23,8 сМ.

Обращает на себя внимание факт, что на хромосоме 1В в позиции 23,8 сМ располагался локус, кодирующий гены, отвечающие за проявление признаков продуктивности растений и урожайности зерна (число зерен в колоске, число зерен в колосе, масса зерна с колоса, масса главного колоса, число зерен с растения, масса зерна с растения, «масса зерна с главного колоса,  $K_{\text{хоз. растения}}$  и  $K_{\text{хоз. колоса}}$ ). QTL, определяющий количество листьев на главном стебле, также располагался на хромосоме 1В, но в позиции 176,0 сМ, следовательно, это другой локус, отличный от локуса 23,8 сМ. Масса 1000 зерен и масса 1000 зерен в главном колосе тоже определялись одним локусом, картированным на 6А в позиции 101,9 сМ. На хромосоме 4А выделились два блока генов, формируемые локусами в позиции 87,5 сМ (масса снопа с корнями и масса зерна с одного снопа) с близлежащей позицией 63,2 сМ (длина стебля) и в позиции 206,5 сМ (длина колоса и высота растения). Наличие подобного рода блоков генов, сосредоточенных в одной или нескольких группах сцепления, указывает на эволюционное конаследование признаков, отвечающих за определенные этапы онтогенеза растений и его индивидуальные особенности в конкретных условиях произрастания. Разумеется, канализированность изменчивости и консерватизм генетических систем онтогенетической и филогенетической адаптации (систем F и R), а также их субкомпонентов весьма относительны в естественной эволюции, но существенны в практической деятельности человека, особенно в селекции (33). Отсюда и особая роль индуцированного рекомбиногенеза в повышении эффективности селекционных программ (34). Создание геномных карт, насыщенных молекулярными маркерами, позволяет разделить количественный признак на более простые генетические компоненты (QTL) и упростить их идентификацию, особенно при взаимодействии генотип  $\times$  среда. Очевидно, что особенности проявления такого взаимодействия связаны с адаптивным потенциалом растения (34-38). По-видимому, комплексное действие факторов внешней среды во многом определяет особенности сформировавшихся эволюционно блоков коадаптированных генов адаптации у каждого вида, в том числе у пшеницы, а также специфику коадаптации ее генетической системы в целом. На такой же основе, как известно, формируется специфичная для каждого вида растений эволюционная и онтогенетическая «память» генетических систем F и R (33, 34, 38-40). В соответствии с теорией метода, QTL могут быть выявлены только в случае, если родительские формы несут различные аллели (4, 9). Желаемый аллель может оказаться очень специфичным для одного родителя и отсутствовать в других генотипах, (например, составляющих картирующую популяцию). Тем не менее, выявленные QTL указывают на возможность улучшения селекционного материала, если хромосомные районы с нужными позитивными эффектами будут сгруппированы. В наших исследованиях установлено, что количественные признаки коррелировали между собой. Это следует из наличия более чем одного QTL для двух и более признаков в одном и том же локусе на хромосоме и характера их проявления. Однако полученные результаты не позволяют разделить эффекты тесного сцепления локусов и плейотропию. Для установления статистически достоверных взаимодействий изу-

чаемых признаков мы провели их корреляционный анализ (данные представлены в online версии статьи на сайте <http://www.agrobiology.ru>, табл. 2).

Полностью линейные взаимосвязи, когда коэффициент корреляции  $r$  почти равен 1, выявили между высотой растений и длиной колоса, а также числом растений со снопа и сохранностью к уборке (здесь и далее рассматриваются только результаты, статистически значимые при  $p < 0,05$ ). Соответственно, у этих пар совпали степени корреляции с остальными признаками.

Проявилась достаточно высокая корреляция между продолжительностью периода всходы—колошение и продолжительностью периода всходы—выход в трубку ( $r = 0,73$ ), а также продолжительностью периода всходы—созревание ( $r = 0,79$ ). Появление воскового налета на внешней стороне листа было тесно взаимосвязано с наличием воскового налета на стебле ( $r = 0,98$ ) и колосе ( $r = 0,77$ ). Сильную взаимосвязь ( $r = 0,75$ ) обнаружили и у такой пары признаков, как восковой налет на стебле и восковой налет на колосе.

Для числа зерен в колосе и числа зерен в колоске  $r = 0,91$ , при этом у них в парах с другими признаками выявили следующие высокие коэффициенты корреляции: с массой зерна с колоса — соответственно 0,89 и 0,84, с массой зерна с главного колоса — 0,94 и 0,86, с массой зерна с растения — 0,85 и 0,78, с числом зерен с растения — 0,93 и 0,83, с  $K_{\text{хоз. растения}}$  — 0,71 и 0,83, с  $K_{\text{хоз. колоса}}$  — 0,78 и 0,87. Кроме того, число зерен в колосе показало высокую степень сопряженности с массой зерна с одного снопа ( $r = 0,75$ ) и массой главного колоса ( $r = 0,73$ ). Число колосков в колосе достаточно тесно коррелировало с высотой растения и длиной колоса (по  $r = 0,70$ ). Число колосьев было сильно взаимосвязано с массой снопа с корнями ( $r = 0,79$ ), числом растений со снопа и сохранностью к уборке (по  $r = 0,92$ ).

Масса зерна с колоса достаточно тесно коррелировала с массой зерна с главного колоса ( $r = 0,97$ ). Сходные результаты получены при оценке взаимосвязи этих признаков с другими: с массой зерна с одного снопа — соответственно  $r = 0,80$  и  $r = 0,82$ , с массой главного колоса —  $r = 0,86$  и  $r = 0,90$ , с числом зерен с растения —  $r = 0,89$  и  $r = 0,92$ , с массой зерна с растения —  $r = 0,92$  и  $r = 0,94$ , с  $K_{\text{хоз. растения}}$  —  $r = 0,73$  и  $r = 0,74$  и, наконец, с  $K_{\text{хоз. колоса}}$  —  $r = 0,77$  и  $r = 0,79$ . Отметим коэффициент корреляции между массой зерна с главного колоса и массой растения ( $r = 0,70$ ).

Прослеживалась сильная сопряженность между массой зерна с растения и массой зерна с одного снопа ( $r = 0,87$ ), числом зерен с растения ( $r = 0,96$ ),  $K_{\text{хоз. колоса}}$  ( $r = 0,76$ ), массой растения ( $r = 0,78$ ), массой главного колоса ( $r = 0,84$ ). В свою очередь, масса главного колоса достаточно сильно коррелировала с массой зерна с одного снопа ( $r = 0,71$ ), массой растения ( $r = 0,80$ ), числом зерен с растения ( $r = 0,81$ ), а также длиной стебля, высотой растения и длиной колоса (по  $r = 0,72$ ). В паре длина стебля—длина верхнего (колосоносного) междоузлия  $r = 0,86$ .

Характерно, что число зерен с растения также сильно сопряженно с массой растения ( $r = 0,73$ ), массой зерна с одного снопа ( $r = 0,86$ ) и  $K_{\text{хоз. колоса}}$  ( $r = 0,77$ ). Отметим, что масса снопа с корнями имела сильную взаимосвязь с массой зерна с одного снопа ( $r = 0,80$ ), числом растений со снопа и сохранностью к уборке (по  $r = 0,74$ ). Для  $K_{\text{хоз. растения}}$  и  $K_{\text{хоз. колоса}}$   $r = 0,91$ , для общего числа стеблей и количества продуктивных стеблей  $r = 0,89$ , для массы 1000 зерен и массой 1000 зерен с главного колоса  $r = 0,90$ .

Также были выявлены средние ( $0,3 \leq r < 0,7$ ) и слабые ( $r < 0,3$ ) достоверные корреляции. Обращает на себя внимание тот факт, что помимо положительных, обнаружили отрицательные корреляции. Так, продолжительность периода всходы—кущение отрицательно коррелировала с массой снопа с корнями ( $r = -0,37$ ), числом колосьев, числом растений со снопа

и сохранность к уборке (по  $r = -0,32$ ).

В целом, корреляционный анализ показал, что проявление изученных хозяйственно ценных признаков взаимосвязано, но различается по степени сопряженности, что указывает на их комплексную природу. Установление молекулярно-генетических и физиологических механизмов формирования таких признаков может быть следующим шагом в практическом применении идентифицированных QTL в селекции яровой мягкой пшеницы. Следует отметить, что для этого необходима комплексность исследований, которая предполагает детальное планирование экспериментов. Однако полученные результаты уже сегодня позволяют использовать в MAS выявленные молекулярно-генетические маркеры, сцепленные с идентифицированными и картированными QTL.

Соотношение эффектов генов в разных локусах описывают негативным экспоненциальным распределением (41). И хотя действие большинства генов можно изучать с помощью сегрегационного анализа, многие гены и QTL с малыми эффектами до сих пор не поддаются индивидуальному исследованию теми же методами. Как результат, оценка (доказательство или опровержение) гипотезы негативного экспоненциального распределения эффекта действия генов пока невозможна и требует дополнительных исследований.

Таким образом, мы впервые выявили и картировали QTL для 42 хозяйственно ценных и агрономически значимых признаков в условиях южной лесостепи Западно-Сибирской равнины. Установлено, что генетическая изменчивость большинства изученных признаков, как правило, контролируется несколькими QTL с широким спектром действия, которые коррелируют друг с другом, либо большим числом локусов с малыми эффектами. Полученные в настоящем исследовании данные позволяют оценивать полигенные эффекты QTL и взаимодействие генотип  $\times$  среда с целью практического применения в селекции яровой мягкой пшеницы.

*1ФГБОУ ВО Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, Поступила в редакцию 17 октября 2017 года*

644008 Россия, г. Омск, Институтская площадь, 1,  
e-mail: vp.shamanin@omgau.org;

*2ФГБНУ Агрофизический научно-исследовательский институт,*  
195220 Россия, г. Санкт-Петербург, Гражданский просп., 14,  
e-mail: alle007@mail.ru, yuv\_chesnokov@agrophys.ru ✉;

*3Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK),*  
Corrensstr. 3, Stadt Seeland OT Gatersleben,  
D-06466 Germany,  
e-mail: boerner@ipk-gatersleben.de

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2018, V. 53, № 1, pp. 50-60*

## QTL MAPPING IN HEXAPLOID SOFT WHEAT (*Triticum aestivum* L.) IN WEST SIBERIAN PLAIN

*V.P. Shamanin<sup>1</sup>, S.S. Shepelev<sup>1</sup>, V.E. Pozherukova<sup>1</sup>, I.V. Pototskaya<sup>1</sup>, N.V. Kocherina<sup>2</sup>,  
U. Lohwasser<sup>3</sup>, A. Börner<sup>3</sup>, Yu.V. Chesnokov<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Stolyin Omsk State Agrarian University, 1, Institutskaya pl., Omsk, 644008 Russia, e-mail vp.shamanin@omgau.org;*

*<sup>2</sup>Agrophysical Research Institute, Federal Agency for Scientific Organizations, 14, Grazhdanskii prosp., St. Petersburg, 195220 Russia, e-mail yuv\_chesnokov@agrophys.ru (✉ corresponding author);*

*<sup>3</sup>Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Corrensstr. 3, Stadt Seeland OT Gatersleben, D-06466 Germany, e-mail boerner@ipk-gatersleben.de*

ORCID:

Shamanin V.P. [orcid.org/0000-0003-4767-9957](https://orcid.org/0000-0003-4767-9957)

Shepelev S.S. [orcid.org/0000-0002-4282-8725](https://orcid.org/0000-0002-4282-8725)

Pozherukova V.E. [orcid.org/0000-0001-8429-2167](https://orcid.org/0000-0001-8429-2167)

Pototskaya I.V. [orcid.org/0000-0003-3574-2875](https://orcid.org/0000-0003-3574-2875)

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by Russian Science Foundation (project № 16-16-10005)

Kocherina N.V. [orcid.org/0000-0002-8791-1899](https://orcid.org/0000-0002-8791-1899)

Lohwasser U. [orcid.org/0000-0002-3788-5258](https://orcid.org/0000-0002-3788-5258)

Börner A. [orcid.org/0000-0003-3301-9026](https://orcid.org/0000-0003-3301-9026)

Chesnokov Yu.V. [orcid.org/0000-0002-1134-0292](https://orcid.org/0000-0002-1134-0292)

## Abstract

Mapping of quantitative traits loci (QTL) is a modern approach to studying their genetic variability. In this, mapping QTL which determine the economically valuable traits and their effective use in the marker assisted selection are of practical interest. Here, we report evaluation of a set of 114 recombinant inbred lines of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) mapping population ITMI (International Triticeae Mapping Initiative) in the conditions of West-Siberian plain, Russia. The ITMI mapping population was obtained by crossing spring wheat *Triticum aestivum* L. cultivar Opata 85 with a synthetic hexaploid W7984, the amphidiploid which was produced by crossing *Aegilops tauschii* Coss. (DD) sample CIGM86.940 and tetraploid wheat *T. turgidum* var. *durum* cultivar Altar 84 (AABB). In total, 42 different economically valuable traits were evaluation during the vegetation period, and 55 quantitative trait loci were identified. The dependence fidelity between the identified loci and trait polymorphism was estimated based on the threshold of the likelihood ratio of LOD-score (logarithm of odds). For 35 identified QTL,  $\text{LOD} \geq 3.0$  was found. Identified QTL were dispersed on 19 linkage groups different chromosomes and expressed in environment conditions of southern forest-steppe zone of West-Siberian plain with varying certainty. It was shown that the manifestation of the identified QTL may be environmentally dependent or independent, and the investigated quantitative traits correlated and were interrelated. To determine the nature of the relationship between the evaluated traits, the correlation coefficients  $r_{xy}$  were calculated. We revealed different correlations between expression of the evaluated economically valuable traits studied which stresses on the complex nature of their manifestation. It is established that the genetic variability of most of the traits evaluated is usually controlled by several QTL with broad effects which correlate with one another or by a large number of QTL with small effects. The detected QTL and linked molecular markers may be of interest for further study of the genetic control of economically valuable traits determined by identified QTL and for implementing marker-assisted selection in bread wheat.

Keywords: *Triticum aestivum*, quantitative economically valuable traits, ecology and genetic mapping, southern forest-steppe zone of West-Siberian plain of Russia.

## REFERENCES

1. Tanksley S.D. Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: comparison across species, generations and environments. *Genetics*, 1991, 127: 181-187.
2. Kearsey M.J., Farquhar A.G. QTL analysis in plants: where are we now? *Heredity*, 1998, 80: 137-142 (doi: 10.1046/j.1365-2540.1998.00500.x).
3. Morgante M., Salamini F. From plant genomics to breeding practice. *Curr. Opin. Biotech.*, 2003, 14: 214-219 (doi: 10.1016/S0958-1669(03)00028-4).
4. Tanksley S.D. Mapping polygenes. *Annu. Rev. Genet.*, 1993, 27: 205-233 (doi: 10.1146/annurev.ge.27.120193.001225).
5. Liu B.H. *Statistical genomics: linkage, mapping, and QTL analysis*. London, NY, Washington, 1998.
6. Collard B.C., Mackill D.J. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 2008, 363: 557-572 (doi: 10.1098/rstb.2007.2170).
7. Khavkin E.E. Molekulyarnye markery v rastenievodstve [Molecular markers in plant breeding]. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 1997, 5: 3-21 (in Russ.).
8. Potokina E.K., Chesnokov Yu.V. Sovremennyye metody genomnogo analiza v issledovaniyakh genetik kolichestvennykh priznakov u rastenii [Modern methods of genome analysis in studies of quantitative traits in plants]. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2005, 3: 3-18 (in Russ.).
9. Chesnokov Yu.V. *Kartirovanie lokusov kolichestvennykh priznakov u rastenii [QTL mapping in plants]*. St. Petersburg, 2009 (in Russ.).
10. Chesnokov Yu.V. *Molekulyarno-geneticheskie markery i ikh ispol'zovanie v predselektionnykh issledovaniyakh [Molecular markers and their use in pre-breeding]*. St. Petersburg, 2013 (in Russ.).
11. Yakushev V.P. *Na puti k tochnomu zemledeliyu [Towards precision agriculture]*. St. Petersburg, 2002 (in Russ.).
12. Paterson A.H., Damon S., Hewitt J.D., Zamir D., Rabinowitch H.D., Lincoln S.E., Lander E.S., Tanksley S.D. Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: comparison across species, generations and environments. *Genetics*, 1991, 127(1): 181-187.
13. Stuber C.W., Lincoln S.E., Wolf D.W., Helentjaris T., Lander E.S. Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. *Genetics*, 1992, 132: 823-839.
14. Li Z.K., Yu S.B., Lafitte H.R., Huang N., Courtois B., Hittalmani S., Vijayakumar C.H.M., Liu G.F., Wang G.C., Shashidhar H.E., Zhuang J.Y., Zheng K.L., Singh V.P., Sidhu J.S., Srivantaneeyakul S., Khush G.S. QTL  $\times$  environment interactions in rice. I. Heading date and plant height. *Theor. Appl. Genet.*, 2003, 108: 141-153 (doi: 10.1007/s00122-003-1401-2).
15. Blanco A., Pasqualone A., Troccoli A., Di Fonzo N., Simeone R. Detection of grain protein content QTLs across environment in tetraploid wheats. *Plant Mol. Biol.*, 2002, 48: 615-623 (doi:

10.1023/A:1014864230933).

16. Pshenichnikova T.A., Ermakova M.F., Chistyakova A.K., Shchukina L.V., Berner A., Reder M. Molekulyarnoe kartirovanie lokusov, svyazannykh s pokazatelyami kachestva zerna myagkoi pshenitsy [Molecular mapping of loci associated with grain quality in soft wheat]. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2006, 5: 41-47 (in Russ.).
17. Pshenichnikova T.A., Ermakova M.F., Chistyakova A.K., Shchukina L.V., Berezovskaya E.V., Lohvasser U., Reder M., Berner A. *Genetika*, 2008, 44: 90-101 (in Russ.).
18. Börner A., Schumann E., Fürste A., Cöster H., Leithold B., Ruder M., Weber W. Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 2002, 105: 921-936 (doi: 10.1007/s00122-002-0994-1).
19. Batalova G.A., Rusakova I.I., Kocherina N.V., Lovasser U., Berner A., Chesnokov Yu.V. *Otsenka linii ITMI i kartirovanie QTL u yarovoi myagkoi pshenitsy (Triticum aestivum L.) v usloviyakh Severo-Vostoka Rossiiskoi Federatsii* [Evaluation of ITMI lines and QTL mapping in spring soft wheat (*Triticum aestivum* L.) in the North-East of the Russian Federation]. Kirov, 2016 (in Russ.).
20. Chesnokov Yu.V., Sitnikov M.N., Schumlyanskaya N.V., Kocherina N.V., Goncharova E.A., Kozlenko L.V., Syukov V.V., Kochetkov D.V., Lohwasser U., Börner A. *Catalogue of recombinant inbred lines of mapping population ITMI of soft spring wheat Triticum aestivum L. (ecological and geographical trials and QTL mapping)*. St. Petersburg—Gatersleben, 2014.
21. Chesnokov Yu.V., Mirskaya G.V., Kanash E.V., Kocherina N.V., Lohwasser U., Börner A. QTL mapping in spring soft wheat (*Triticum aestivum* L.) in controlled conditions of agroecobiopolygon. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2017, 64(1): 55-68 (doi: 10.1134/S1021443716060029).
22. Shamanin V., Salina E., Wanyera R., Zelenskiy Y., Olivera P., Morgounov A. Genetic diversity of spring wheat from Kazakhstan and Russia for resistance to stem rust Ug99. *Euphytica*, 2016, 212(2): 287-296 (doi: 10.1007/s10681-016-1769-0).
23. Filatova A.A., Shitova I.P. *Shirokii unifikirovannyi klassifikator SEV roda Triticum L.* [A broad unified Comecon classifier of genus *Triticum* L.]. Leningrad, 1989 (in Russ.).
24. Lander E.S., Green P., Abrahamson J., Barlow A., Daly M.J., Lincoln S.E., Newburg L. MAP-MAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics*, 1987, 1: 174-181 (doi: 10.1016/0888-7543(87)90010-3).
25. Haldane J.B.S. The recombination of linkage values and the calculation of distance between the loci of linkage factors. *J. Genet.*, 1919, 8: 299-309.
26. Ganai M.W., Röder M.S. Microsatellite and SNP markers in wheat breeding. In: *Genomics-assisted crop improvement*. R.K. Varshney, R. Tuberosa (eds.). Springer, Dordrecht, 2007: 1-24 (doi: 10.1007/978-1-4020-6297-1\_1).
27. Nelson J.C. QGENE: software for mapping-based genomic analysis and breeding. *Mol. Breeding*, 1997, 3(3): 239-245 (doi: 10.1023/A:1009604312050).
28. Kosambi D.D. The estimation of map distances from recombination values. *Annals of Human Genetics*, 1944, 12(1): 172-175 (doi: 10.1111/j.1469-1809.1943.tb02321.x).
29. Morton N.E. Sequential test for the detection of linkage. *Am. J. Hum. Genet.*, 1955, 7: 277-318.
30. Kocherina N.V., Artemyeva A.M., Chesnokov Yu.V. Use of LOD-score technology in mapping quantitative trait loci in plants. *Russian Agricultural Sciences*, 2011, 37: 201-204 (doi: 10.3103/S1068367411030098).
31. Kendall M., St'yuart A. *Statisticheskie vyvody i svyazi* [Statistical inferences and correlations]. Moscow, 1973 (in Russ.).
32. Fisher R.E. *Statisticheskie metody dlya issledovatelei* [Statistical methods for researchers]. Moscow, 1958 (in Russ.).
33. Zhuchenko A.A., Korol' A.B. *Rekombinatsiya v evolyutsii i selektsii* [Recombination in evolution and breeding]. Moscow, 1985 (in Russ.).
34. Zhuchenko A.A. *Adaptivnoe rastenievodstvo (ekologo-geneticheskie osnovy). Teoriya i praktika* [Adaptive plant growing (ecological and genetic basis) — theory and practice]. Moscow, 2008 (in Russ.).
35. Worland A.J. The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats. *Euphytica*, 1996, 89: 49-57 (doi: 10.1007/BF00015718).
36. Worland A.J., Börner A., Korzun V., Li W.M., Petrovic S., Sayers E.J. The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheats. *Euphytica*, 1998, 100: 385-394 (doi: 10.1023/A:1018327700985).
37. Iwaki K., Haruna S., Niwa T., Kato K. Adaptation and ecological differentiation in wheat with special reference to geographical variation of growth habit and *Vrn* genotype. *Plant Breeding*, 2001, 120: 107-114 (doi: 10.1046/j.1439-0523.2001.00574.x).
38. Zhuchenko A.A. *Adaptivnyi potentsial kul'turnykh rastenii: ekologo-geneticheskie osnovy* [Adaptive potential of cultivated plants: ecological and genetic basis]. Kishinev, 1988 (in Russ.).
39. Zhuchenko A.A. *Ekologicheskaya genetika kul'turnykh rastenii (adaptatsiya, rekombinogenez, agrobiotsenoz)* [Ecological genetics of cultivated plants (adaptation, recombination, agrobiocenosis)]. Kishinev, 1980 (in Russ.).
40. Zhuchenko A.A. *Adaptivnoe rastenievodstvo (ekologo-geneticheskie osnovy)* [Adaptive plant growing (ecological and genetic basis)]. Kishinev, 1990 (in Russ.).
41. Otto S.P., Jones C.D. Detecting the undetected: estimating the total number of loci underlying a quantitative trait. *Genetics*, 2000, 156(4): 2093-2107.